

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Bern
(Prof. Dr. K. Lenggenhager)

Quantitative Erfassung des Metathrombinogens im Menschenblut

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae

der Universität Bern

vorgelegt von

PETER HILTBOLD

von Schinznach (Aargau)

1950

Druck: Buchdruckerei Feuz, Bern

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Bern
(Prof. Dr. K. Lenggenger)

Quantitative Erfassung des Metathrombinogens im Menschenblut

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

PETER HILTBOLD

von Schinznach (Aargau)

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. Lenggenhager durch die medizinische Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 13. März 1950.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. med. C. Hallauer.



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	5
1. Umschreibung	5
2. Methode	6
II. Versuche	8
1. Normalteste	8
2. Physiologische Veränderungen	8
3. Pathologische Veränderungen	9
a) Thromboseverdächtige	9
b) Nach Operationen	9
c) Leberaffektionen	10
d) Nach Dicumarolverabreichung	11
e) Selbstversuche	12
4. Die Beziehungen des Heparins zum Metathrombinogen	13
III. Zusammenfassung	18
IV. Literaturangaben	20

I. Einleitung

1. Problemstellung

Das Ziel dieser Arbeit ist die quantitative Erfassung des Metathrombinogens in menschlichem Citratplasma. Nach der Definition von Lenggenhager (1) versteht man unter Metathrombinogen die thrombinzerstörende Komponente der Albuminfraktion.

Das Metathrombinogen gehört also chemisch zu der Albuminfraktion und hat eine bestimmte Aufgabe im Blutgerinnungsmechanismus zu erfüllen. Das Metathrombinogen geht nämlich eine lockere Verbindung mit dem Thrombin zu dem für die Gerinnung praktisch unwirksamen Metathrombin ein. Es inaktiviert also das Thrombin und ist damit ein Antithrombin.

Die Bindungsgeschwindigkeit zwischen dem Metathrombinogen und dem Thrombin ist dabei relativ langsam und nimmt auch in grosser Konzentration nicht wesentlich zu. Die Bindung ist dabei ziemlich locker, lässt sich doch durch Zugabe von Säure, Base oder auch Alkohol wenigstens ein Teil des gebundenen Thrombins wieder frei machen (1).

Als besondere Eigenschaften des Metathrombinogens seien noch erwähnt, dass es hitzelabil und alkoholempfindlich ist, von der übrigen Albuminfraktion durch Durchleiten von $1/10$ -n HCl oder Kohlensäure abgetrennt oder durch Zugabe von polyanetholsulfosaurem Na («Liquoid Roche») ausgefällt werden kann (7). Bemerkenswert ist ferner die von Lenggenhager gefundene Tatsache, dass zunehmende Säuerung des Milieus die Thrombinzerstörung verschlechtert und unter Umständen gänzlich hemmt (1).

Die Rolle, die dem Metathrombinogen im Organismus also zufällt, ist die Beseitigung des bei Gewebeläsionen entstehenden Thrombins. Es wirkt damit einer über das Ziel hinausschiessenden Gerinnung entgegen. Meine Aufgabe ist es nun, dieses Metathrombinogen im normalen menschlichen Plasma quantitativ zu messen und unter pathologischen Verhältnissen eventuelle Abweichungen vom Mittelwert zu finden.

2. Methodik

Prinzip: Das Metathrombinogen verbindet sich nach Lengg enhager mit dem Heparin zu einem hochwirksamen, schlagartig reagierenden Antithrombin. Geben wir nun zu einer bestimmten Menge Citrat-Plasma steigende Mengen Heparin, so entsteht immer mehr des hochwirksamen Antithrombins, bis schliesslich das gesamte Metathrombinogen mit Heparin abgesättigt ist. Von diesem Punkt an wird ein weiterer Heparinzusatz keine Vermehrung des Antithrombins mehr ergeben. Die Titration mit Thrombin ergibt die Menge des vorliegenden Antithrombins, folglich des Metathrombinogens.

Nötige Reagenzien

Heparin: Verwendet wurde das «Liquemin Roche». Es ist dies ein reines, durch Kristallisation von Beimengungen befreites Heparinpräparat, das in einer Konzentration von 2000 A. C. E. / cc gebraucht wurde. (A. C. E. = Anticoagulationseinheiten = Internat. oder Toronto-Einheiten.)

Heparin ist das physiologische blutgerinnungshemmende Prinzip des tierischen Organismus. Es ist ein Polyschwefelsäureester des Mucoitins, eines stickstoffhaltigen hochmolekularen Kohlehydrates und enthält ungefähr 35 % Schwefelsäure (6).

Thrombin: Anfänglich verwendete ich ein aus Menschenblut selbst hergestelltes Thrombinpräparat (Methodik: Lengg enhager, Neue Tatsachen der Blutgerinnungslehre, Helvetica medica acta, Band 7, Heft 3, 1940). Später das Probe-Thrombinpräparat Roche (Fabrikationsnummer 3496/299), jetzt das «Topostasin Roche» in sterilen Trockenampullen.

Den Wirkungsgrad des in Aqua destillata verdünnten Thrombins stellt man immer so ein, dass eine gleiche Menge von in üblicher Weise citriertem Menschenblut bei 20 ° C in 8 Sekunden zur Gerinnung gebracht wird.

Versuchs anordnung

Grundsätzlich werden konstante Mengen Thrombinlösung und Plasma zueinander gegeben, da die Gerinnungszeit bestimmte Variationen je nach den Volumenverhältnissen Testplasma: Thrombinlösung aufweist, wie der folgende Versuch zeigt:

Versuch	1	2	3	4	5	6
Plasma	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
Thrombin	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4
Gerinnungszeit in Sekunden	11,9	7,7	6,8	8,0	8,2	9,8

Es gibt also ein optimales mittleres Mischungsverhältnis der Volumina Testplasma und Thrombinlösung, bei dem die Gerinnung am raschesten eintritt, während auf der einen Seite die zu starke Verdünnung des Plasmas, auf der anderen die Verminderung des Thrombins die Gerinnungszeit verlängert.

Den Versuch führt man wie folgt durch:

In eine Reihe von Reagenzgläser gibt man je nach der Menge des zur Verfügung stehenden Plasmas 0,4 bzw. 0,5 cc citriertes Testplasma.

Dann gibt man in die einzelnen Gläser zunehmende Mengen Heparin (2000 A. C. E. / cc) meist in folgender Grössenordnung: 0, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,01, 0,02, 0,025, 0,03, 0,035, 0,04, 0,05 cc.

Jedes Reagenzglas wird kurz geschüttelt. Darauf gibt man nacheinander in jedes Glas eine gleiche Menge der oben erwähnten Thrombinlösung und misst die Gerinnungszeit wie folgt:

Im Augenblick, wo die Thrombinlösung zum Plasma gegeben wird, wird die Stoppuhr laufen gelassen. Das steilgehaltene Reagenzglas wird ruckweise so bewegt, dass das Plasma-Thrombingemisch sich in stetiger Rotation befindet.

Den Eintritt der Gerinnung erkennt man am plötzlichen Auftreten einer diffusen, leichten Trübung mit dem Entstehen einiger kleiner Bläschen in dem Gemisch. Darauf entsteht das übliche feine Maschenwerk des Fibrins, das durch die Rotation sich von der Wand abhebt und sich zu einem kleinen Knäuel formt. Die Stoppuhr wird im Augenblick des Auftretens der Trübung und der ersten Bläschen arretiert.

Versuchsbedingungen

1. Peinlich saubere Reagenzgläser.
2. Eine konstante Temperatur aller verwendeten Lösungen und Substanzen von 20 ° C.
3. Das Plasma muss aus frisch entnommenem Blut stammen.

II. Versuchsergebnisse

1. Normalteste

Zu den Normaltesten verwendete ich im ganzen 36 klinisch völlig gesunde Leute im Alter von 16 bis 30 Jahren. Die folgende Versuchsreihe zeigt einen dieser Normalteste:

K. R., 19jähriges, gesundes Mädchen

Reag.-Glas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Plasma	0,4 cc																
Liquemin	—	0,001	0,003	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008	0,01	0,02	0,025	0,03	0,035	0,04	0,05	0,06	0,07
Thrombinlösung	0,4 cc																
Gerinnungszeit in Sekunden	9,6	17,6	21,5	23,4	24,7	26,2	25,5	24	20,5	16	16	16,2	16	14,8	15,2	16,8	17,2

Sämtliche Kurven ergaben einen ähnlichen Verlauf: Mit zunehmenden Heparinmengen Zunahme der Gerinnungszeit bis zu dem uns interessierenden Maximalwert bei völliger Absättigung des Metathrombinogens durch Heparin, dann bei Heparinüberschuss Abnahme der Gerinnungszeit auf einen Minimalwert, dann wiederum Anstieg. Dieser Dromedartyp des Kurvenverlaufes nach dem ersten Maximalwert ist für die Metathrombinogenbestimmung nebensächlich und wird später diskutiert werden.

Sämtliche Normalteste ergaben einen mittleren Maximalwert der Gerinnungszeit von 25 Sekunden, der meist bei einer Zugabe von 0,006 cc Heparin gemessen wurde. Als Variationsbreite dürfen nach den Versuchen die Extremwerte von 21 Sekunden und 28 Sekunden angegeben werden.

2. Physiologische Veränderungen

Verwendet man nicht frisches Plasma, so erhält man eine zu lange maximale Gerinnungszeit, also eine scheinbare Zunahme des Metathrombinogenspiegels. Und zwar nimmt die maximale Gerin-

nungszeit nach 24 Stunden Stehenlassen des Plasmas im Kühlschrank um durchschnittlich 3 bis 4 Sekunden zu, um bei weiterem Stehenlassen noch rascher zuzunehmen.

3. Pathologische Veränderungen

a) Veränderungen des Metathrombinogenspiegels bei Thrombose und Thromboseverdacht

Von 26 untersuchten Fällen wiesen 11 manifeste klinische Zeichen einer Thrombophlebitis auf, die restlichen 15 machten kurz nach einer Operation eine kleine Fieberzacke, die anders nicht gut erklärt werden konnte.

Durch theoretische Überlegung dürfen wir in einem Teil dieser Fälle eine Verminderung des Metathrombinogens annehmen, nämlich dort, wo das durch Thrombin gebundene Metathrombinogen noch nicht durch den Organismus nachgeliefert wurde.

Die Versuche ergaben:

Von den 11 Fällen einer klinisch manifesten Thrombophlebitis wiesen 7 einen erniedrigten Metathrombinogenspiegel auf, mit Werten der maximalen Gerinnungszeit zwischen 16 und 21 Sekunden. Die übrigen 4 ergaben Werte innerhalb der Norm. Von den 15 Thromboseverdächtigen wiesen 8 einen erniedrigten Metathrombinogenspiegel auf, mit Werten der maximalen Gerinnungszeit von 16 bis 21 Sekunden, wobei die maximale Gerinnungszeit meist schon bei einer Zugabe von 0,004 cc Liquemin gemessen wurde. Die übrigen 8 Fälle ergaben normale Werte.

In einem Fall einer tödlichen Embolie nach Operation einer Appendicitis ergab die Untersuchung des sofort entnommenen Blutes einen extrem tiefen Wert des Metathrombinogens mit 15 Sekunden.

b) Veränderungen des Metathrombinogenspiegels vor und nach Operationen

Jeder operative Eingriff setzt eine bestimmte Menge Thrombin frei und zwar um so mehr, je ausgedehntere gewebliche Läsionen eine Operation bedingt. Wir können also auch hier, theoretisch, eine Verminderung des Metathrombinogens bald nach einer Operation erwarten.

Von 12 untersuchten Fällen wiesen 6 eine Verkürzung der maximalen Gerinnungszeit von 2 bis 4 Sekunden auf, also eine

merkliche Verminderung des Metathrombinogenspiegels; in 6 Fällen keine deutliche Veränderung. Tabelle 1 ergibt die Übersicht.

I

Patient Art der Operation	Maximale Gerinnungszeit vor der Operation	Anzahl Stunden nach der Operation	Maximale Gerinnungszeit nach der Operation
<i>Senkung des Metathrombinogens</i>			
S. A. Strumektomie	26,8 "	$\frac{3}{4}$	23,2 "
Z. J. Strumektomie	26,3 "	1 $\frac{1}{2}$	23,1 "
S. J. Strumektomie	27,4 "	2 $\frac{1}{2}$	24,3 "
B. A. Magenresektion	27,0 "	1	23,4 "
S. H. Mammaamputation	26,8 "	2	23,2 "
F. F. Cholecystektomie	24,5 "	1	22,2 "
		23	22,0 "
<i>Keine Senkung:</i>			
S. M. Laminektomie	23,0 "	2	22,8 "
M. K. Thiersch'sche Plastik	24 "	2	24,2 "
B. K. Discushernie	23,2 "	1	24,1 "
S. A. Strumektomie	25,2 "	2	24,9 "
O. G. Hernia ing.	24,3 "	1	24,1 "
H. K. Hernia ing.	23,2 "	1	24,2 "

Es zeigt sich dabei, dass

1. eine Senkung des Metathrombinogens vor allem bei Operationen mit schwerer Gewebsschädigung eingetreten ist,
2. diese Senkung stundenlang anhält. (Bis 24 Stunden nach Operationen.)

c) Veränderungen des Metathrombinogenspiegels
bei Leberaffektionen

Theoretische Überlegung: Die Synthese der Eiweisse der Albuminfraktion und damit auch des Metathrombinogens könnte in der Leber geschehen. Eine Funktionsstörung der Leber würde dann die Produktion der Albumine beeinträchtigen, was sich vielleicht in einer Veränderung des Metathrombinogenspiegels zeigen könnte. Die folgende Tabelle 2 der 14 untersuchten Fälle zeigt die Ergebnisse:

Zahl der Fälle	Krankheit	Maximale Gerinnungszeit in Sekunden		
		normal	verkürzt	verlängert
2	Obstruktionsikterus	26,2 "		30 "
1	Kongenital. Hämolyt. Ikterus		19 "	
1	Extrahepat. Ikterus mit grosser dolenter Leber	28,0 "		
2	Schwere Lebercirrhosen (pos. Takata)	22,0 bis 24,3 "		
1	Prim. Leber-Ca mit Melasikterus	21,7 "		
		26,6 "		
4	Hepatitis epidemica	24,8 "	20 "	
		23,7 "		
1	Hepatitis bei Pfeiffer	28,0 "		
1	Stauungsleber mit pos. Takata	27,0 "		
1	Schwere perniciöse Anämie		14 "	
14	Total	10	3	1

Diese Übersicht zeigt, dass das Metathrombinogen bei den verschiedenen Affektionen nirgends charakteristisch in seiner quantitativen Menge verändert ist; die quantitative Bestimmung des Metathrombinogens dürfte als Leberfunktionstest deshalb kaum in Frage kommen. Umgekehrt darf man aus den Resultaten schliessen, dass die Leber als wesentliche Bildungsstätte des Metathrombinogens wohl nicht in Betracht kommt.

Erwähnt mag hier dagegen jener Fall der schweren perniciösen Anämie sein, der eine Erniedrigung der max. Gerinnungszeit auf 14 " aufwies. Bereits 14 Tage später, nach Behandlung mit Neo-Hepatex, eine solche von 27,4 ", also wiederum völlig normal.

d) Dicumarol und Metathrombinogen

Das verwendete «Dicumarol Roche» ist das 3,3-Methylen- bis 4,4-oxycumarin. Es bewirkt durch Senkung des Prothrombinspiegels eine Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes. Die Gerinnungsverzögerung setzt nicht momentan ein, sondern langsam, im Gegensatz zu Heparin, und hält auch länger an. Die Senkung des Prothrombins erfolgt wahrscheinlich durch eine reversible Leberschädigung. Frage ist nun, ob das Dicumarol über die Leber auch das Metathrombinogen beeinflusst.

Acht Fälle wurden unmittelbar vor und nach einer üblichen Dicumarolkur untersucht: Tabelle 3.

3

Patient	Maximale Gerinnungszeit	
	vor Dic.	nach Dic.
Sp. H. Fussgangrän	20 "	21,6 "
Hu. Beinfraktur mit Thrombose	17 "	21,4 "
Kö. Laparatomie	21 "	26,6 "
Ack. Hernie	18 "	11,4 "
S. A. Appendicitis	22 "	20,8 "
H. F. Strumektomie	23 "	22,7 "
G. K. Laparatomie	21 "	24 "
R. u. K. Fraktur	26 "	25,6 "

Die Tabelle zeigt, dass Dicumarol nur in einem Falle zu einem starken Sturz des Metathrombinogens führte, sonst aber dieses in keiner charakteristischen Weise beeinflusste.

e) Selbstversuche

1. Injektionen von Thrombokinin (alias Thrombokinasen)

Theoretische Überlegung: Thrombokinin verbindet sich mit dem im Blute frei vorkommenden Prothrombin und den Ca-Ionen zum Thrombin. Thrombokinininjektionen setzen also Thrombin frei, das seinerseits durch das Metathrombinogen unwirksam gemacht wird. Wir dürfen also durch Thrombokinininjektionen eine Verminderung des Metathrombinogens erwarten, unter der Voraussetzung, dass keine sofortige Nachlieferung erfolgt. 5 subcutane Injektionen von 20 cc Thrombokinin (1 Teil Struma in 3 Teilen physiologischer Lösung, fein zerhackt, gekocht und filtriert) ergaben $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde nach Injektion in 4 Fällen keine messbare Veränderung des Metathrombinogens, in einem Falle eine leichte Senkung der maximalen Gerinnungszeit von 24 " auf 21 ".

2. Thrombininjektionen

Die theoretische Überlegung ergibt, dass dadurch der Metathrombinogenspiegel gesenkt werden müsste. 3 subcutane Injektionen von 20 cc Thrombinlösung, — die in gleichen Mengen zu citriertem Menschenblut gegeben, dieses in 21 " zum Gerinnen

bringt —, ergaben $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde nach Injektion keine Veränderung des Metathrombinogenspiegels.

Erst eine subcutane Injektion von 20 cc Thrombinlösung, die Citratblut in 14 " zum Gerinnen bringt, ergab $\frac{3}{4}$ Stunden nach Injektion eine deutliche Senkung des Metathrombinogenspiegels von 23 " auf 19 ".

4. Die Beziehungen des Heparins zum Metathrombinogen

Wie bereits eingangs erwähnt, geht das Heparin mit dem Metathrombinogen eine lockere Verbindung ein, wobei aus dem als Antithrombin langsam wirkenden Metathrombinogen ein hochwirksames Antithrombin entsteht und zwar mit der Geschwindigkeit einer jonalen Reaktion.

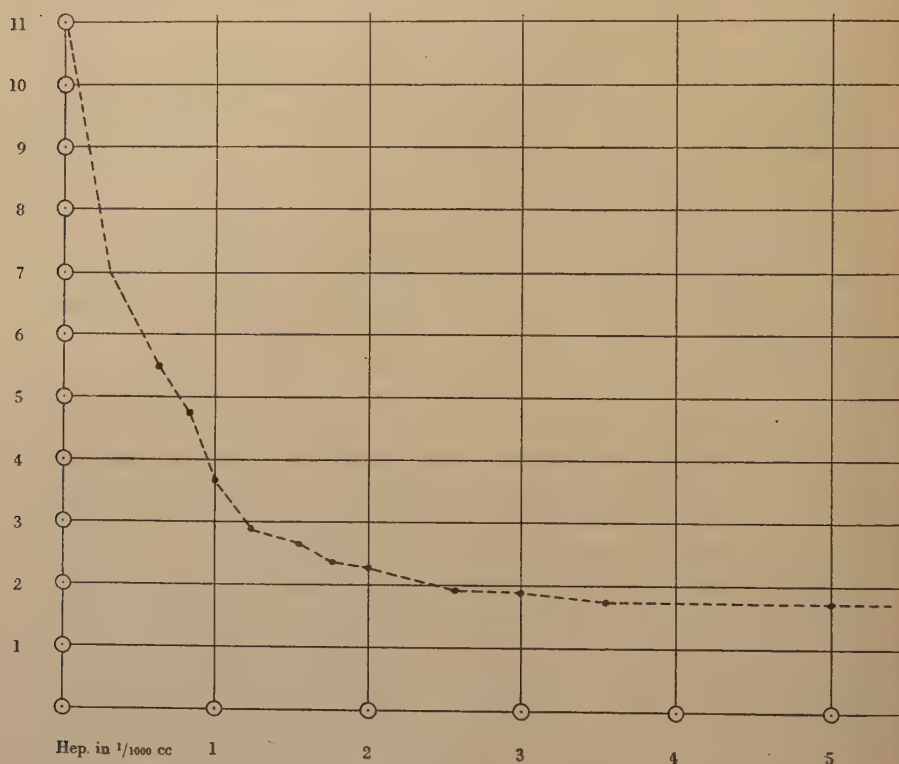
Schon 1936 haben Per Hedenius und Olaf Wielander (4) festgestellt, dass die Länge der Gerinnungszeit nicht proportional der Heparindosis ist. Die Wirkung kleiner Dosen ist relativ stärker. Der folgende Versuch zeigt die Variation der Gerinnungszeit bei steigenden Mengen Heparin:

Reagenzglas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Testplasma	0,5 cc													
Liquemin in cc	—	0,00025	0,0005	0,00075	0,001	0,00125	0,0015	0,00175	0,002	0,0025	0,003	0,0035	0,004	0,005
Thrombinlösung	0,5 cc													
Thrombin-Einheit.	5,9 E													
Gerinnungszeit in Sekunden	8,5	11,5	13,8	16	19	22,7	24,2	25,2	26	33,5	35	37	37	37
Gerinnungszeit in Thrombin-Einheiten (TE)	10,8	7	5,4	4,4	3,5	2,9	2,65	2,45	2,4	1,92	1,8	1,67	1,67	1,67

Was verstehen wir nun unter der «Gerinnungszeit ausgedrückt in Thrombineinheiten»? Eine Thrombineinheit entspricht jener Menge Thrombin, die eine gleiche Menge Citratblut bei 20° C in 60 Sekunden zum Gerinnen bringt. Die Gerinnungszeit in Thrombineinheiten ausgedrückt gibt nun jene Menge Thrombin an, die nötig wäre, um eine gleiche Menge Citratblut in eben dieser Zeit zur Gerinnung zu bringen.

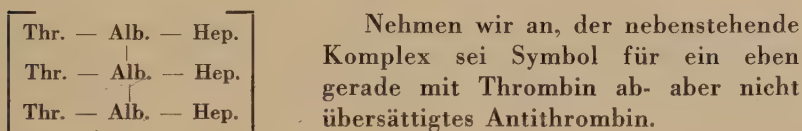
Im folgenden Diagramm sind nun die Variationen der Gerinnungszeit in Thrombineinheiten in Abhängigkeit von steigenden Mengen Heparin graphisch dargestellt. Die resultierende Kurve zeigt uns also die Abnahme einer konstanten Thrombinmenge durch steigende Dosen Heparin.

Gerinnungszeit
in Thrombineinheiten

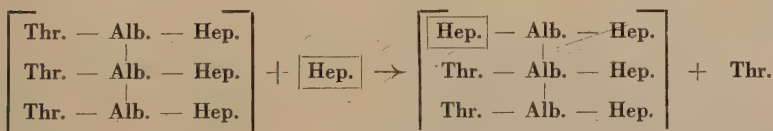


Zur Diskussion steht nun weiterhin der eigenartige Kurvenverlauf der Gerinnungszeit bei zunehmenden Heparinmengen (siehe Seite 8), indem die Kurve nämlich anfänglich ansteigt auf den für die Metathrombinogenbestimmung wichtigen Maximalwert, dann hoch bleibt, um bald wiederum abzufallen, darauf wieder flacher wird und dann wiederum ansteigt, um sich im Unendlichen zu verlieren.

Der erste Anstieg der Kurve ist klar: Er kommt zustande durch die Zunahme des hochwirksamen Antithrombins bei steigendem Heparinzusatz. Die Kurve steigt anfangs rasch entsprechend der vorhin gefundenen Exponentialkurve. Mit zunehmender Absättigung des Metathrombinogens mit dem Heparin erreicht die Kurve dann ihren Höhepunkt, wenn alles Metathrombinogen mit Heparin abgesättigt ist. Jeder nun folgende Heparinzusatz führt zu keiner weiteren Zunahme des Antithrombins, folglich auch zu keiner Verlängerung der Gerinnungszeit. Wir würden demnach nun erwarten, dass die Kurve bei weiterem Heparinzusatz auf einem Plafond bleibt. Statt dessen sinkt aber die Kurve bald wiederum ab. Wie ist nun dieser abfallende Teil der Kurve zu erklären? Wir haben bereits anfangs gesagt, dass die Bindung zwischen dem Metathrombinogen und dem Thrombin recht locker ist und zum Beispiel durch Base oder Säure, ja sogar Alkoholzusatz wenigstens zum Teil wiederum rückgängig gemacht werden kann. Dasselbe gilt nun wahrscheinlich auch von einem Heparinüberschuss. Man kann sich dies schematisch folgendermassen vorstellen:



Nun geben wir zu diesem gerade abgesättigten Antithrombin einen Heparinüberschuss, dieser verbindet sich mit dem Albumin unter Freisetzung eines Aequivalentes Thrombin:



Das durch den Heparinüberschuss verdrängte und freigesetzte Thrombin führt nun wiederum zu einer Verkürzung der Gerinnungszeit.

Wie es für die Freisetzung des Thrombins aus obiger Verbindung durch Säure, Base und Alkohol gilt, nämlich dass nur ein Teil des Thrombins wiederum frei werden kann, so gilt dies auch für die Thrombinfreisetzung durch Heparinüberschuss, erreicht

man doch niemals wieder die ursprüngliche kurze Gerinnungszeit ohne Heparin.

Damit wäre der absteigende Kurventeil erklärt, wie lässt sich nun aber das neuerliche Ansteigen erklären? Dazu muss ich zuerst eine eigenartige Beobachtung erwähnen:

Bei der Durchführung umfangreicherer Normalteste ist es mir aufgefallen, dass mit zunehmendem Heparinüberschuss sich der ganze Gerinnungscharakter ändert. Das normale Gerinnungsbild, wie es sich bei Heparindosen, die vom Metathrombinogen noch abgesättigt werden können, zeigt, sieht etwa folgendermassen aus: Diffuse, leichte Trübung, kleine Bläschen, dann entsteht ein feines, zusammenhängendes Fibrinmaschennetz, das beim Stehen des Plasmas in den Gelzustand überführt. Lassen wir das Plasma aber rotieren, so hebt sich das Maschenwerk von der Wand ab, bildet ein zusammenhängendes Säcklein mit dem Stiel im Rotationszentrum der Plasma-Oberfläche. Um diesen Stiel windet sich das Klümpchen nun bei weiterer Rotation auf und presst sich dabei selbst aus, d. h. das Plasma defibriniert sich.

Ganz anders wird dieses Gerinnungsbild nun bei zunehmendem Heparinüberschuss. Neben der anfänglichen Trübung entsteht nun nicht ein zusammenhängendes Maschenwerk in Form eines Wölkchens oder Klümpchens, sondern eine unzusammenhängende grobe Ausflockung, die mit steigendem Heparinüberschuss kontinuierlich in eine ganz feine Körnelung übergeht, die überhaupt zu keinem Gelzustand mehr führt. Dieses langsam sich ausbildende und wenig imposante Gerinnungsbild erschwert denn auch sehr die zeitliche Feststellung des Gerinnungsbeginnes. Diese Beobachtung scheint die Untersuchungen von Lenggenhager zu stützen, dass Heparin im Überschuss auch eine fibrinogenschädigende Wirkung hat (8).

Als Beispiel sei hier ein solcher Versuch angeführt:

Reagenzglas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Plasma cc	0,4															
Liquemin cc	0,003	0,004	0,005	0,006	0,007	0,02	0,025	0,03	0,035	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1
Thrombinlösung cc	0,4															
Gerinnungszeit Sek.	18	19,8	25	22,2	21,6	13,6	14,5	14,8	15,7	15,1	16,5	17,6	19,2	20,7	20,2	21,6
Gerinnungscharakt.	Wölklein →				Flockung →				Körnelung →							

Dass bestimmte Beziehungen zwischen dem Heparin und dem Fibrinogen bestehen, geht ferner aus folgendem Versuch hervor: Vergleich der Gerinnungsfähigkeit einer Fibrinogen-Lösung, die mit Heparin vorbehandelt wurde und einer unbehandelten:

1.	2.
5 cc Citrat-Plasma	5 cc Citrat-Plasma
0,5 cc Heparin à 10,000 ACE/cc	—
20 × mit Aq. dest. verdünnt	20 × mit Aq. dest. verdünnt
CO ₂ - Durchleitung	CO ₂ - Durchleitung
Zentrifugieren	Zentrifugieren

Lösung des Niederschlags in

- a) 2,5 cc Ammoniumoxalat 3 %
- b) 2,5 cc phys. NaCl

Nun messen wir durch Zusatz von Thrombin in beiden Lösungen die Gerinnungszeit. Ist das Heparin ein Antifibrinogen, so muss die Gerinnungszeit in der vorbehandelten Fibrinogenlösung länger sein:

	Vorbehandelte Fibrinogenlösung		Unbehandelte Lösung.	
Fibrinogenlösung	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc
Thrombinlösung	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc
Gerinnungszeit in Sek.	Innert 2 Minuten keine sichtbare Gerinnung		20,2	20,0

Daraus ergibt sich, dass Heparin in hohen Dosen auch ein Antifibrinogen ist.

Damit ist der dromedarartige Verlauf der Kurve erklärt. Zusammenfassend sei nochmals erwähnt:

Das anfängliche Verlängern der Gerinnungszeit ist eine Funktion der Antithrombinwirkung des Heparins zusammen mit dem Metathrombinogen, das anschliessende Verkürzen der Gerinnungszeit ist eine Folge der Metathrombinogenblockierung durch den

Heparinüberschuss und das neuerliche Verlängern der Gerinnungszeit bei weiterem Heparinzusatz lässt sich schliesslich auf die Antifibrinogenwirkung hoher Heparindosen zurückführen. Es ist klar, dass diese einzelnen Wirkungsmechanismen des Heparins sich nicht in sauber getrennter Reihenfolge folgen, sondern einander überschneiden. Dabei bleibt die Frage noch offen, ob nicht auch noch die übrigen gerinnungshemmenden Wirkungen des Heparins, insbesondere die Vorstufenhemmung des Prothrombokins und des Prothrombins eine Bedeutung für diesen Verlauf der Gerinnungszeit bei zunehmenden Mengen Heparin haben.

Beiläufig sei noch erwähnt, dass man bei Durchführung der Heparinprophylaxe nicht Gefahr läuft, in den absteigenden Teil der Kurve zu geraten, wo die Gerinnungszeit wiederum verkürzt wird, da die dazu notwendigen Heparindosen ausserhalb der gebräuchlichen Menge liegen.

III. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das Metathrombinogen im menschlichen Citrat-Plasma bestimmt.

Die Methodik erfolgte durch Überführen des Metathrombinogens durch Heparin in ein hochwirksames Antithrombin. Durch Zusatz einer bestimmten Menge Thrombinlösung konnten anhand der Gerinnungszeit Rückschlüsse auf das quantitative Vorhandensein des Metathrombinogens gezogen werden.

Die Versuche ergaben:

1. Als normaler Metathrombinogenspiegel wird anhand von 36 gesunden Versuchspersonen derjenige bezeichnet, dem bei gleichen Mengen Plasma und Thrombin eine maximale Gerinnungszeit zwischen den Grenzwerten von 21 und 28 Sekunden entspricht.
2. In 7 Fällen von 11 klinisch manifesten Thrombophlebitiden und in 8 Fällen von 15 Thromboseverdächtigen wurde ein erniedrigter Metathrombinogenspiegel festgestellt mit einer maximalen Gerinnungszeit zwischen 16 und 21 Sekunden.
3. In 12 beobachteten Fällen von Frischoperierten war in sechs Fällen der Metathrombinogenspiegel 1 bis 2 Stunden nach der

Operation gegenüber vorher erniedrigt und zwar bei den sechs Operationen, die mit den grösseren Gewebsläsionen einhergingen.

4. Bei 14 der verschiedensten Lebererkrankungen konnten keine charakteristischen Veränderungen des Metathrombinogens nachgewiesen werden. Die Leber würde demnach bei der Synthese kaum eine wesentliche Rolle spielen.
5. Eine regelmässige Beeinflussung des Metathrombinogenspiegels durch Dicumarol konnte in 8 beobachteten Fällen nicht nachgewiesen werden.
6. Selbstversuche mit Thrombin- und Thrombokinininjektionen ergaben eine leichte Senkung des Metathrombinogenspiegels, wenn erstere in genügender Menge appliziert wurden.
7. Die Versuche ergaben, dass ein Heparinüberschuss aus einem mit Thrombin gerade abgesättigten Antithrombin wiederum Thrombin durch Substitution mit Heparin freisetzt, die Gerinnungszeit also wiederum verkürzt.
8. Heparin in hohen Dosen ist auch ein Antifibrinogen.

IV. Literaturangaben

1. Lenggenhager, Neue Tatsachen der Blutgerinnungslehre, Helv. med. acta Band 7, Heft 3, 1940.
2. Rojak, Wirkungsdauer von intravenös injiziertem Heparin beim Menschen. Inauguraldiss., Bern, 1939.
3. Lenggenhager, Heparin und seine praktische Anwendung. Klin. Wochenschrift, Dez. 1940.
4. Per Hedenius und Olaf Wielander, Acta med. Scand., Band 88, 1936.
5. Lenggenhager, Untersuchungen einiger Gerinnungshemmer.
6. Compendium Roche, Basel, 1948.
7. Ilja Rubinstein, Wirkungsweise der bekannteren blutgerinnungshemmenden Mittel, Inauguraldiss., Bern, 1936.
8. Lenggenhager, Gerinnungsbuch, Verlag Thieme, 1949.

